DOI:10.11931/guihaia.gxzw201903004

19 种常见中药材醇提物的体外抗菌活性筛选

张铁焕[1,2]，吴玉霞[1,3]，奠佐红[1,2]，左国营[1*]

（1. 中国人民解放军联勤保障部队第九二Ｏ医院，昆明 650032；2. 昆明医科大学，昆明 650500；3. 云南中医药大学，昆明 650500）

摘要：为了考察 19 种中药材乙醇提取物的体外抗临床常见致病菌的活性。将中药粗粉用 80%乙醇浸泡提取，提取液减压浓缩制备成浸膏，通过琼脂打孔法测定提取物抑菌圈，再通过微量倍比稀释法测定最低抑菌浓度(MIC) 和最低杀菌浓度(MBC/MFC)。结果表明所筛选的 19 种中药材乙醇提取物对不同的菌株具有不同程度的抑制作用，14 种中药材乙醇提取物抗 SA、EC、PA 和 CA 的抑菌圈范围在 8~27 mm 之间，其中地锦草、四块瓦、三颗针、马尾黄连和土大黄抗 SA、EC 的抑菌圈范围在 10.3~26.6 mm 之间；马尾黄连、孜然、地锦草、广西莪术、穿心莲、益母草、吴茱萸、土大黄、叶上花、土连翘、凤尾草和三颗针的醇提物对 MRSA 和铜绿假单胞菌耐药菌均具有显著的抗微生物活性，其 MIC/MBC 值在 391~6 250 μg•mL^{-1} 之间；地锦草、三颗针抗 MRSA 的最低 MIC 值分别为 391、781 μg•mL^{-1}，抗 PA 耐药菌的最低 MIC 值均为 1562.5μg•mL^{-1}；马尾黄连、孜然和三颗针的醇提物对白色念珠菌耐药菌有中等抑制作用，杀菌效果不明显。该研究结果可为后续相关植物作为潜在抗菌化合物及其抗菌药物佐剂的研究提供一定的参考。

关键词：中药材，病原菌， 抗菌活性，最低抑菌浓度， 最低杀菌浓度

中图分类号：R285 **文献标识码：**A

Screening of antimicrobial activity of 19 Chinese herbal medicines ethanol extracts in vitro

ZHANG Tiehuan[1,2], WU Yuxia[1,3], DIAN Zuohong[1,2], ZUO Guoying[1*]

(1. *The 920th Hospital of PLA Joint Service Security Forces*, Kunming 650032, China; 2. *Kunming Medical University*, Kunming 650500, China; 3. *Yunnan University of Traditional Chinese Medicine*, Kunming 650500, China)

Abstract: In order to determine the antimicrobial activities of ethanol extracts from 19 Chinese herbal medicines in vitro against common clinical pathogenic

---

基金项目：国家自然科学基金(NSFC 81173504) ［Supported by the Natural Science Foundation of China (NSFC81173504) ］。

作者简介：张铁焕(1993-)，女，云南泸西人，硕士研究生，主要从事中草药抗菌活性成分研究， (E-mail) 2868546714@ qq.com。

[*]**通信作者：**左国营，博士，主任药师，主要从事植物活性成分研究和天然药物开发，(E-mail) zuoguoying@ 263.com。

bacteria. The dried powder of the collected 19 Chinese herbal medicine samples were extracted with 80% ethanol at room temperature and the solvent was evaporated under reduced pressure to get the ethanol extracts. In this study, each extract was screened for antimicrobial activity using the agar diffusion method, and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC) were determined by serial microdilution method. The results indicated that ethanol extracts of 19 Chinese herbal medicine had different degrees of antimicrobial activities. The zones of inhibition of fourteen ethanol extracts against SA, EC, PA and CA were between 8-27mm, the extracts from *Euphorbia humifusa*, *Chloranthus japonicas*, *Berberis sargentiana*, *Thalictrum petaloideum* and *Rumex madaio* were shown zones of inhibition in between 10.3-26.6 mm against SA and EC; the ethanol extracts from *Thalictrum petaloideum*, *Cuminum cyminum*, *Euphorbia humifusa*, *Curcuma kwangsiensis*, *Andrographis paniculata*, *Leonurus artemisia*, *Evodia rutaecarpa*, *Rumex madaio*, *Helwingia japonica*, *Hymenodictyon flaccidum*, *Pteris multifida* and *Berberis sargentiana* were shown to have significant antimicrobial activity against pathogens(MRSA and *Pseudomonas aeruginosa* resistant strain), the ranges of MICs/MBCs were between 391 and 6 250 $\mu g{\bullet}mL^{-1}$; the lowest MIC value for *Euphorbia humifusa* and *Berberis sargentiana* was obtained against MRSA (respectively, 391$\mu g{\bullet}mL^{-1}$/781$\mu g{\bullet}mL^{-1}$), the lowest MIC value for *Euphorbia humifusa* and *Berberis sargentiana* is 1 562.5$\mu g{\bullet}mL^{-1}$against *Pseudomonas aeruginosa* resistant strain; the ethanol extracts from *Thalictrum petaloideum*,*Cuminum cyminum*, *Berberis sargentiana* were moderately inhibitory to the test *Candida albicans* resistant strain, and the sterilization effect is not obvious. These results may serve as a guide for selecting plant species as potential antibacterial compounds and antibacterial adjuvants of antibacterial and antifungal drugs.

Key words：Chinese herbal medicines, pathogens, antibacterial activity, minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC)

1929 年 Alexander Fleming 发现青霉素，人类进入了抗生素的辉煌时代，但抗生素创造的辉煌仅仅持续了 40 年。导致感染疾病卷土重来的主要原因是抗菌药的不合理使用急剧增加了微生物对现有抗菌药的多药耐药。病原微生物对抗生素的耐药性问题可导致临床抗感染治疗的失败，进而导致死亡人数增加。发现新的抗菌药物及其抗菌增效剂来切断或逆转病原微生物对抗生素的耐药是国内外针对耐药问题兴起的研究热点，有望成为解决耐药性问题的新途径(Pages et al., 2011; Reens 2018; Mouwakeh et al., 2019)。长期以来，中草药也一直被用于治疗感染性疾病(Mohanta et al., 2012; 李延鸿和朱怀军, 2013; Mohanta et al., 2014; 张驰等, 2017；Jiang,S et al., 2019)。与合成抗生素相比，从不同植物中提取的活性成分有巨大的治疗潜力和较小的副作用。开发有效、安全的天然产物来控制多重耐药性（MDR）病原体迫在眉睫。

中草药在体外抗菌活性方面的筛选，国内外文献均有相关报道。Panda et al. (2016)筛选了 222 种植物不同部位提取物的抗菌活性,结果显示筛选物种对革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌都具有抑菌活性。Pauw & Eloff (2014)为了寻求具有强抑制活性的物质，随机筛选了南非数百种树种叶提取物的抗病原微生物的活性。李鹤筛选了地锦草不同部位对红色毛癣菌的抗菌活性并进行其物质基础研究,研究结果表明地锦草醇提物的抑菌效果总体优于各分段部位(李鹤, 2017)。张丹媚等通过抑菌实验和电镜技术等方法测定研究了广西莪术油对 6 种植物病原真菌的抑制作用，结果表明广西莪术油具有较强的抑菌活性(张丹

媚等, 2008)。大部分植物的抗菌研究程度不明确，且其对耐药菌株抗菌活性的报道少见。基于课题组前期工作及其我国物种优势，结合植物化学分类学考察，本研究通过研究 19 种中药材对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SA)、大肠埃希菌 （*Escherichia coli*, EC)、白色念珠菌(*Candida albicans*, CA)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)四种标准菌以及 MRSA、铜绿假单胞菌耐药菌、白色念珠菌耐药菌的体外抑制作用，以筛选出抑菌活性较好的中草药品种，为后续这些植物的化学成分的进一步研究提供依据，通过活性成分追踪、分离，鉴定先导化合物的结构为进一步研究提供科学依据，进而为缓解细菌耐药性问题提供一定的参考。

1 实验材料

1.1 材料和试剂

1.1.1 药材：大百部(*Radix stemona*)、小百部（*Asparagus officinalis*）、马尾黄连（*Thalictrum petaloideum*）、孜然（*Cuminum cyminum*）、地锦草（*Euphorbia humifusa*）、穿心莲（*Andrographis paniculata*）、广西莪术（*Curcuma kwangsiensis*）、益母草（*Leonurus artemisia*）、四块瓦（*Chloranthus japonicus*）、吴茱萸（*Evodia rutaecarpa*）、蒲公英（*Taraxacum mongolicum*）、土大黄（*Rumex madaio*）、紫菀（*Aster tataricus*）、大戟（*Euphorbia pekinensis*）、白术（*Atractylodes macrocephala*）、叶上花（*Helwingia japonica*）、土连翘（*Hymenodictyon flaccidum*）、凤尾草（*Pteris multifida*）、三棵针（*Berberis sargentiana*）,受试中药材均购买于云南省昆明市螺蛳湾中药材市场,由中国人民解放军联勤保障部队第九二 O 医院药学部植物化学研究中心鉴定并进行样本保存。

1.1.2 培养基：营养琼脂培养基 (nutrient agar, 北京三药科技开发公司，批号为 180503), 沙氏琼脂培养基(sabouraud's, agar, 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司，批号为 20180515), 液体沙氏培养基 (liquid sabourand medium, 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司，批号为 20160822), 营养肉汤培养基(nutrient broth, 北京三药科技开发公司，批号为 171110)。试剂: NaCl (四川西陇化工有限公司，批号为 20151219), 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO, 利安隆博华(天津) 医药化学有限公司，批号为 20151009), 乙醇均为工业级(重新蒸馏后使用) ,均购自昆明福海达化玻仪器有限公司。

1.1.3 实验菌株：金黄色葡萄球菌 (ATCC 29213、CMCC（B）26003)、铜绿假单胞菌(ATCC 27853)、大肠埃希菌(CMCC（B）44102) 、白色念珠菌 (ATCC Y0109、ATCC SC5314)均由中国药品生物制品检定所、广东环凯微生物科技有限公司提供。耐药菌株:铜绿假单胞菌耐药株（PA 135、PA 204、PA 216、PA 238、PA 244、PA 276、PA 283、PA 294、PA 314、PA 319）; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA 8、MRSA 23、MRSA 40、MRSA 82、MRSA 98、MRSA 115、MRSA 128、MRSA 166、MRSA 187、MRSA 331）; 白色念珠菌耐药菌（CA 100、 CA 152、 CA 632、 CA 649、CA 819、 CA 953、 CA 956）均由中国人民解放军联勤保障部队第九二 O 医院药学部临床微生物实验室从本院临床重症感染患者标本中分离得到,经过形态学和生化学鉴定。

2 实验方法

2.1 中药浸膏的制备

将 19 种中药材打成粗粉，用 80%的乙醇室温下共浸泡 6 次：第 1 次浸泡 7 d; 第 2、第 3 次浸泡 5 d; 第 4、第 5 次浸泡 3 d; 第 6 次浸泡 1 d。每次浸泡液经 8 层纱布过滤,合并滤液，减压浓缩(温度控制在 40 ℃以下) 制备为浸膏，用结晶刀转移至无菌玻璃瓶中, 4 ℃下封口保存备用。

2.2 药液和菌液的制备

药液：称取 50 mg 的药物浸膏于（2 mL）EP 管中，加入 10%DMSO 作为助溶剂,超声震荡使药物溶解，在超净工作台里加入灭菌生理盐水，配成浓度为 50 mg•mL^{-1} 的药液。菌液：将菌株接种于琼脂培养基上，细菌用 M-H 琼脂培养基,真菌用沙保罗氏琼脂，置于 35 ℃恒温箱中培养 20 h,采用 0.5 号麦氏比浊管将细菌浓度配置为 1.5×10^{8} CFU•mL^{-1}，真菌用细胞计数板配成 1.0×10^{6} CFU•mL^{-1}，用于做药物敏感性和琼脂扩散法测量抑菌圈。细菌 300 倍稀释成 5×10^{5} CFU•mL^{-1}，真菌 100 倍稀释成 1.0×10^{4} CFU•mL^{-1}，用于最低抑菌浓度（MIC）和最低杀菌浓度（MBC/MFC）的测定。

2.3 体外抑菌活性的测定

2.3.1 琼脂扩散法测定抑菌圈

用打孔器将琼脂平板打上 6 mm 的孔备用，每个平板均匀打上 5 个孔。再用棉签沾取细菌浓度为 1.5×10^{8} CFU•mL^{-1} 的菌液均匀涂布于 M-H 琼脂平板，真菌菌液浓度为 1.0×10^{6} CFU•mL^{-1}，涂布于沙保罗氏琼脂平板上。 最后于每孔加入 50 μl 浓度 50 mg•mL^{-1} 药液,药液不得溢出孔外。 琼脂平板放入 35℃ 恒温箱中培养 20 h，用卡尺测量抑菌圈的直径，做 3 次平行实验，取平均值。根据药理学试验方法判断：抑菌圈＜10 mm 为耐药和无抑菌作用；10 mm 为轻度敏感；11～15 为中度敏感；≥16 mm 为高度敏感。抗生素的抑菌圈以临床和实验室标准（Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI）作为标准。

2.3.2 MIC 和 MBC/MFC 的测定

采用微量液体培养基倍比稀释法(胡欢等, 2018)，具体实验步骤参照文献。

3 实验结果

3.1 中药材醇提物抑菌圈测定结果

通过琼脂打孔法测定各药材的抑菌圈，如表 1 所示，对于标准 SA，19 种药材中马尾黄连、地锦草、三颗针抑菌圈直径均大于 16 mm 具有高度敏感强抑制作用；穿心莲、益母草、土大黄、叶上花、土连翘、凤尾草抑菌圈直径在 10～16 mm 之间表现为中轻度敏感。对于标准 EC，地锦草、四块瓦、三颗针、土大黄抑菌圈直径在 10～16 mm 之间表现为中轻度敏感。对于标准 PA，四块瓦、紫菀、孜然、益母草、凤尾草、马尾黄连抑菌圈直径均为 10 mm 表现为轻度敏感。对于标准 CA，三颗针抑菌圈直径≥16 mm 表现为高度敏感强抑制作用；四块瓦、马尾黄连抑菌圈直径在 10～16 mm 之间表现为中轻度敏感。

表 1 19 种中药材对 6 株标准菌的抑菌圈

Table 1 Inhibition zones of 19 Chinese herbal medicines against six standard strains

中药材 Chinese herbal medicines	抑菌圈直径 Diameter of the inhibition zone (mm)					
	CMMCC(B)26003	CMMCC(B)44102	ATCC 27853	ATCC 29213	ATCC SC5314	ATCC Y0109
大百部 *Radix Stemona*	—	—	—	—	—	—
小百部 *Asparagus officinalis*	—	—	—	—	—	—
马尾黄连 *Thalictrum petaloideum*	21.3	—	9	16.6	14	11.6
孜然 *Cuminum cyminum*	—	—	10	9.6	—	—
地锦草 *Euphorbia humifusa*	17.3	14.3	—	19	—	—

广西莪术 *Curcuma kwangsiensis*	—	—	—	10	—	—
穿心莲 *Andrographis paniculata*	14.6	—	—	15.3	—	—
益母草 *Leonurus artemisia*	15	—	11	15	—	11
吴茱萸 *Evodia rutaecarpa*	9	—	—	9.6	—	—
蒲公英 *Taraxacum mongolicum*	—	—	—	—	—	—
四块瓦 *Chloranthus japonicus*	—	12	9	8.3	12.3	16.3
土大黄 *Rumex madaio*	10.3	14	—	12.3	—	—
大戟 *Euphorbia pekinensis*	—	—	—	9	—	—
叶上花 *Helwingia japonica*	12	—	—	11	—	—
紫菀 *Aster tataricus*	—	—	—	—	—	—
土连翘 *Hymenodictyon flaccidum*	12	—	—	13	9	—
凤尾草 *Pteris multifida*	11.6	—	10	9	—	—
三颗针 *Berberis sargentiana*	26.6	14.6	—	20.6	—	—

白术 *Atractylodes macrocephala*		—	—	—	—	—	—

注：“—”表示无抑菌圈。

Note: “—” indicates no inhibition zone.

3.2 MIC 和 MBC/MFC 测定结果

根据抑菌圈筛选结果选定部分中药材通过微量倍比稀释法分别测定了药物提取物对各标准菌及其各耐药菌的抗菌活性。所测各组实验中,阴性对照显示细菌长势良好,排除 10%DMSO 对实验的干扰；空白对照显示无菌生长,表明该实验操作规范、无污染。表 2 结果表明,各中药材的乙醇提取物对 4 株细菌标准菌具有不同程度的抑制作用,其 MIC/MBC 值主要集中在 3 125 ~12 500 μg•mL^{-1} 之间,其中孜然对 2 株标准 CA 具有抑制作用,其 MIC/MFC 值在 3 125 ~12 500 μg•mL^{-1} 之间。表 3、表 4 结果表明马尾黄连、孜然、地锦草、广西莪术、穿心莲、益母草、吴茱萸、土大黄、叶上花、土连翘、凤尾草和三颗针的醇提物对 MRSA 和铜绿假单胞菌耐药菌均具有显著的抗微生物活性,其 MIC/MBC 值在 391~6 250 μg•mL^{-1} 之间；表 5 结果表明马尾黄连、孜然和三颗针的醇提物对白色念珠菌耐药菌有中等抑制作用,杀菌效果不明显。

表 2 17 种中药材对标准菌的 MIC/MBC(MFC)测定结果

Table 2 Results of MIC/MB(F)C determination of 17 Chinese herbal medicines against 6 standard strains

中药材 Chinese herbal medicines	活性 Activity（μg•mL^{-1}）	CMMCC(B)26003	CMMCC(B)44102	ATCC 27853	ATCC 29213	ATCC SC5314	ATCC Y0109
马尾黄连	MIC	781	6 250	3 125	6 250	3 125	3 125
Thalictrum petaloideum	MBC(MFC)	1 562.5	6 250	6 250	6 250	>12 500	>12 500
孜然	MIC	12 500	6 250	6 250	1 562.5	3 125	3 125
Cuminum cyminum	MBC(MFC)	12 500	6 250	6 250	3 125	12 500	6 250
地锦草	MIC	1 562.5	6 250	6 250	3 125	—	—
Euphorbia humifusa	MBC(MFC)	1 562.5	6 250	12 500	3 125	—	—
广西莪术	MIC	3 125	12 500	6 250	3 125	—	—
Curcuma kwangsiensis	MBC(MFC)	3 125	12 500	6 250	6 250	—	—

穿心莲	MIC	3 125	6 250	6 250	6 250	—	—
Andrographis paniculata	MBC(MFC)	6 250	12 500	6 250	6 250	—	—
益母草	MIC	1 562.5	6 250	>12 500	3 125	—	—
Leonurus artemisia	MBC(MFC)	1 562.5	12 500	>12 500	3 125	—	—
吴茱萸	MIC	3 125	12 500	3 125	6 250	—	—
Evodia rutaecarpa	MBC(MFC)	3 125	12 500	6 250	12 500	—	—
蒲公英	MIC	6 250	12 500	6 250	12 500	—	—
Taraxacum mongolicum	MBC(MFC)	6 250	12 500	6 250	12 500	—	—
四块瓦	MIC	6 250	12 500	3 125	6 250	—	—
Chloranthus japonicus	MBC(MFC)	12 500	12 500	6 250	12 500	—	—
土大黄	MIC	1 562.5	12 500	6 250	1 562.5	—	—
Rumex madaio	MBC(MFC)	1 562.5	12 500	6 250	1 562.5	—	—
大戟	MIC	3 125	—	12 500	12 500	—	—
Euphorbia pekinensis	MBC(MFC)	6 250	—	>12 500	12 500	—	—
叶上花	MIC	3 125	6 250	12 500	6 250	—	—
Helwingia japonica	MBC(MFC)	3 125	12 500	12 500	6 250	—	—
紫菀	MIC	6 250	12 500	12 500	12 500	—	—
Aster tataricus	MBC(MFC)	6 250	12 500	12 500	12 500	—	—
土连翘	MIC	1 562.5	6 250	12 500	1 562.5	—	—
Hymenodictyon flaccidum	MBC(MFC)	1 562.5	6 250	12 500	1 562.5	—	—
凤尾草	MIC	3 125	12 500	12 500	3 125	—	—
Pteris multifida	MBC(MFC)	6 250	12 500	12 500	6 250	—	—
三颗针	MIC	781	6 250	6 250	3 125	12 500	12 500
Berberis sargentiana	MBC(MFC)	781	6 250	6 250	3 125	>12 500	>12 500
白术	MIC	12 500	12 500	12 500	6 250	—	—
Atractylodes macrocephala	MBC(MFC)	>12 500	>12 500	12 500	6 250	—	—

万古霉素	MIC	1	—	—	1	—	—
Vancomycin	MBC(MFC)	1	—	—	1	—	—
环丙沙星	MIC	—	1	>4	—	—	—
Ciprofloxacin	MBC(MFC)	—	4	>4	—	—	—
氟康唑	MIC	—	—	—	—	25	>50
Fluconazole	MBC(MFC)	—	—	—	—	>50	>50

注: “—” 表示无活性。下同。

Note: “—” indicates no activity. The same below.

表 3 17 种中药材对 MRSA 的 MIC/MBC 测定结果

Table3 MIC /MBC determination of 17 Chinese herbal medicines against ten strains of MRSA

中药材 Chinese herbal medicines	活性 Activity（μg•mL^{-1}）	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌菌株（MRSA）编号 Stain code of MRSA									
		8	23	40	82	98	115	128	166	187	331
马尾黄连	MIC	1 562.5	1 562.5	3 125	781	1 562.5	3 125	1 562.5	781	1 562.5	1 562.5
Thalictrum petaloideum	MBC	3 125	1 562.5	3 125	6 250	>12 500	3 125	1 562.5	3 125	3 125	3 125
孜然	MIC	3 125	1 562.5	3 125	781	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125
Cuminum cyminum	MBC	6 250	3 125	6 250	12 500	>12 500	6 250	6 250	6 250	6 250	3 125
地锦草	MIC	391	781	3 125	391	1 562.5	1 562.5	781	1 562.5	1 562.5	1 562.5
Euphorbia humifusa	MBC	1 562.5	781	3 125	3 125	>12 500	3 125	1 562.5	3 125	1 562.5	1 562.5
广西莪术	MIC	1 562.5	6 250	3 125	1 562.5	3 125	3 125	12 500	6 250	3 125	6 250
Curcuma kwangsiensis	MBC	3 125	6 250	3 125	12 500	>12 500	6 250	12 500	6 250	6 250	6 250
穿心莲	MIC	6 250	3 125	6 250	6 250	6 250	6 250	3 125	3 125	6 250	3 125
Andrographis paniculata	MBC	6 250	3 125	6 250	12 500	>12 500	6 250	6 250	6 250	12 500	6 250
益母草	MIC	3 125	1 562.5	6 250	6 250	6 250	1 562.5	3 125	3 125	6 250	3 125
Leonurus artemisia	MBC	3 125	1 562.5	12 500	12 500	>12 500	6 250	6 250	3 125	6 250	6 250

吴茱萸	MIC	1 562.5	1 562.5	3 125	3 125	3 125	1 562.5	3 125	1 562.5	1 562.5	1 562.5
Evodia rutaecarpa	MBC	3 125	3 125	6 250	12 500	>12 500	3 125	3 125	6 250	3 125	3 125
蒲公英	MIC	6 250	3 125	12 500	6 250	12 500	6 250	6 250	3 125	12 500	6 250
Taraxacum mongolicum	MBC	12 500	6 250	>12 500	12 500	>12 500	12 500	12 500	6 250	12 500	6 250
四块瓦	MIC	3 125	3 125	6 250	1 562.5	3 125	6 250	6 250	3 125	3 125	6 250
Chloranthus japonicus	MBC	6 250	6 250	12 500	12 500	>12 500	12 500	12 500	12 500	6 250	6 250
土大黄	MIC	781	781	1 562.5	1 562.5	1 562.5	1 562.5	1 562.5	1 562.5	1 562.5	1 562.5
Rumex madaio	MBC	3 125	1 562.5	6 250	12 500	>12 500	3 125	3 125	6 250	3 125	3 125
大戟	MIC	1 562.5	6 250	6 250	1 562.5	6 250	6 250	12 500	6 250	6 250	6 250
Euphorbia pekinensis	MBC	12 500	6 250	>12 500	12 500	>12 500	12 500	12 500	12 500	12 500	12 500
叶上花	MIC	1 562.5	1 562.5	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125
Helwingia japonica	MBC	3 125	3 125	3 125	6 250	>12 500	3 125	3 125	6 250	3 125	3 125
紫菀	MIC	6 250	6 250	6 250	1 562.5	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250
Aster tataricus.	MBC	6 250	6 250	12 500	12 500	>12 500	6 250	12 500	12 500	6 250	6 250
土连翘	MIC	391	391	3 125	781	781	1 562.5	781	781	781	1 562.5
Hymenodictyon flaccidum	MBC	781	781	6 250	6 250	>12 500	6 250	1 562.5	1 562.5	1 562.5	3 125
凤尾草	MIC	6 250	3 125	12 500	3 125	6 250	6 250	6 250	3 125	6 250	3 125
Pteris multifida	MBC	12 500	6 250	12 500	>12 500	>12 500	6 250	6 250	6 250	12 500	6 250
三颗针	MIC	1 562.5	1 562.5	3 125	781	1 562.5	1 562.5	3 125	1 562.5	1 562.5	1 562.5
Berberis sargentiana	MBC	6 250	3 125	3 125	6 250	>12 500	3 125	3 125	6 250	6 250	3 125
白术	MIC	6 250	3 125	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250
Atractylodes macrocephala	MBC	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	12 500	12 500	6 250	6 250
万古霉素	MIC	1	2	1	1	2	1	2	2	2	2
Vancomycin	MBC	1	2	1	1	2	1	2	2	2	2

表 4 17 种中药材对 PA 耐药菌的 MIC/MBC 测定结果

Table 4 Results of MIC/MBC determination of 17 Chinese herbal medicines against *Pseudomonas aeruginosa* resistant strain

中药材 Chinese herbal medicines	活性 Activity （μg•mL^{-1}）	铜绿假单胞菌耐药菌株编号 Stain code of *Pseudomonas aeruginosa* resistant strain									
		238	283	294	314	319	276	135	216	244	204
马尾黄连	MIC	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125
Thalictrum petaloideum	MBC	6 250	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125
孜然	MIC	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	3 125
Cuminum cyminum	MBC	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	3 125
地锦草	MIC	6 250	6 250	6 250	1 562.5	3 125	3 125	1 562.5	3 125	1 562.5	1 562.5
Euphorbia humifusa	MBC	6 250	6 250	6 250	1 562.5	3 125	3 125	1 562.5	3 125	3 125	1 562.5
广西莪术	MIC	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250
Curcuma kwangsiensis	MBC	12 500	12 500	12 500	6 250	12 500	12 500	6 250	12 500	6 250	6 250
穿心莲	MIC	6 250	6 250	6 250	3 125	6 250	6 250	3 125	3 125	3 125	3 125
Andrographis paniculata	MBC	6 250	12 500	12 500	6 250	6 250	6 250	6 250	3 125	6 250	6 250
益母草	MIC	6 250	6 250	6 250	3 125	6 250	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125
Leonurus artemisia	MBC	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	3 125	3 125	6 250	6 250
吴茱萸	MIC	1 562.5	1 562.5	3 125	1 562.5	3 125	1 562.5	1 562.5	1 562.5	1 562.5	1 562.5
Evodia rutaecarpa	MBC	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	1 562.5	3 125	1 562.5	3 125
蒲公英	MIC	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	12 500	6 250	6 250	6 250
Taraxacum mongolicum	MBC	6 250	12 500	6 250	6 250	6 250	6 250	12 500	6 250	6 250	6 250
四块瓦	MIC	3 125	6 250	6 250	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125
Chloranthus japonicus	MBC	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	3 125	3 125
土大黄	MIC	6 250	6 250	3 125	6 250	6 250	6 250	3 125	6 250	3 125	3 125
Rumex madaio	MBC	6 250	6 250	6 250	6 250	12 500	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250

大戟	MIC	6 250	12 500	12 500	6 250	12 500	12 500	6 250	6 250	6 250	6 250
Euphorbia pekinensis	MBC	12 500	12 500	12 500	6 250	12 500	12 500	6 250	12 500	6 250	6 250
叶上花	MIC	3 125	3 125	1 562.5	1 562.5	3 125	1 562.5	1 562.5	3 125	3 125	1 562.5
Helwingia japonica	MBC	>12 500	3 125	6 250	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	3 125	1 562.5
紫菀	MIC	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	3 125	3 125	6 250	6 250	6 250
Aster tataricus	MBC	6 250	6 250	6 250	12 500	6 250	6 250	6 250	12 500	6 250	>12 500
土连翘	MIC	6 250	6 250	6 250	3 125	6 250	3 125	3 125	6 250	3 125	3 125
Hymenodictyon flaccidum	MBC	6 250	6 250	6 250	6 250	12 500	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250
凤尾草	MIC	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250
Pteris multifida	MBC	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250
三颗针	MIC	1 562.5	6 250	3 125	1 562.5	3 125	1 562.5	1 562.5	1 562.5	1 562.5	1 562.5
Berberis sargentiana	MBC	3 125	6 250	3 125	1 562.5	3 125	3 125	1 562.5	3 125	3 125	1 562.5
白术	MIC	12 500	6 250	6 250	3 125	6 250	3 125	6 250	3 125	3 125	3 125
Atractylodes macrocephala	MBC	12 500	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	6 250	3 125	6 250
环丙沙星	MIC	>4	>4	>4	1	>4	>4	0.5	4	>4	>4
Ciprofloxacin	MBC	>4	>4	>4	1	>4	>4	1	>4	>4	>4

表 5　3 种中药材对白色念珠菌耐药菌的 MIC/MFC 测定结果

Table 5 Results of MIC/MFC determination of 3 Chinese herbal medicines against *Candida albicans* resistant strain

中药材 Chinese herbal medicines	活性 activity (μg•mL^{-1})	白色念珠菌耐药菌株编号 Stain code of *Candida albicans* resistant strain						
		100	649	956	632	953	152	819
马尾黄连	MIC	3125	3125	3125	781	3125	781	3125
Thalictrum petaloideum	MFC	>12500	>12500	>12500	>12500	>12500	3125	>12500
孜然	MIC	6250	3125	6250	12500	6250	3125	6250
Cuminum cyminum	MFC	12500	6250	12500	>12500	>12500	3125	>12500

三颗针	MIC	12500	—	12500	3125	12500	-	3125
Berberis sargentiana	MFC	>12500	—	>12500	>12500	>12500	-	>12500
氟康唑	MIC	>50	>50	>50	50	50	12.5	>50
Fluconazole	MFC	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50

4 讨论

本研究结果显示马尾黄连、地锦草、穿心莲、益母草、土大黄、土连翘、凤尾草和三颗针提取物浓度≦50 mg•mL^{-1}时对测试的标准菌具有抑菌圈，所筛选植物对测试菌株的 MIC 值在 391 ~ 6 250 μg•mL^{-1}之间，马尾黄连、地锦草、三颗针等一半的植物提取物在 MIC≦6 250 μg•mL^{-1}时显示出抗菌活性。其中地锦草抗 MRSA 的最低 MIC 值为 391 μg•mL^{-1}，抗 PA 耐药菌的最低 MIC 值为 1 562.5 μg•mL^{-1}；三颗针 MIC 值在 781~3 125 μg•mL^{-1}时抗 MRSA 和铜绿假单胞菌耐药菌显示出较强的抗菌活性，且 MIC 值在 3 125 μg•mL^{-1}时对白色念珠菌耐药菌株也有一定抑制作用。根据相关研究报道马尾黄连、孜然、地锦草、广西莪术、穿心莲、益母草、吴茱萸、土大黄、叶上花、土连翘、凤尾草和三颗针等所含主要成分为萜类、酚类、生物碱等成分，且本文研究结果显示抗菌活性较好，与 Zacchino et al.(2017) 报道的天然低分子化合物增强抗菌剂抗菌能力的物质主要集中在酚类和萜类物质的结果相近，该研究结果可为后续相关植物作为潜在抗菌化合物及其抗菌药物佐剂的研究提供一定的参考。此外，观察到紫菀、白术、蒲公英等植物提取物在琼脂打孔法中未显示出抑菌圈,但在肉汤稀释法中 MIC≥3 125 μg•mL^{-1}时敏感，此现象表明中草药提取物的抑菌圈大小与其相应的 MIC 值不一定成平行关系，可能是由于中草药提取物含有多种成分而各成分溶解的分散性不同；各类物质作用方式不同，如酚类具有很强的结合不同大分子的能力，萜类物质其亲脂性强具有穿透细胞壁的巨大潜力等。本研究中观察到同种菌不同菌株之间对不同药物的敏感性差异，其主要原因可能在于每种植物所含成分及其含量不同所致；同种植物对不同菌株的抗菌差异可能在于菌株耐药机制的不同。中草药与化学药相比，中草药大多为复方组分群，各成分之间具有一定相互联系，且药物进入细胞可发生极其复杂的生化变化，通常表现为整体量效作用，并非简单作用于某一单一靶点(韩飞等, 2016)；测试菌株对抗微生物剂具有不同水平的内在耐受性。在细菌及真菌耐药性的研究中天然产物与抗菌剂的联合也为新的抗菌药物组合开辟了极具希望的前景(Zacchino et al., 2017)。随着“中药绿色抗生素”迈入一个崭新时代的同时，由于中药抗菌耐药性的机制尚未明确，物质基础研究不够充分，分子水平的基础研究相对较少，作用靶点仍旧模糊，中草药在进一步开发和商业化之前，基础筛选研究中评估植物提取物的安全性至关重要，其主要包括进行动物和人体研究以确定其在整个有机体系中的有效性。中草药抗细菌及真菌耐药性的研究仍然处在初级阶段，还有更多的问题等待我们去研究和探讨。

参考文献:

HAN F, XING RH, CHEN LQ, et al., 2016. Research progress of anti-drug resistance in traditional Chinese medicine[J]. Chin J Chin Mat Med, 41(5) : 813-817. [韩飞，幸仁汇，陈琳琦，等, 2016．中药抗细菌耐药性的研究进展[J]．中国中药杂志，41(5): 813-817.]

HU H, ZUO GY, ZHANG ZP, 2018. Screening of antimicrobial activities of 36 Chinese herbal medicines *in vitro* [J] . Guihaia, 38(4) :428-440. [胡欢，左国营，张泽萍 2018. 36 种中药材体外抗菌活性筛选研究[J]. 广西植物, 38(4): 428-440.]

JIANG S, WAN K, LOU HY, et al., 2019. Antibacterial bibenzyl derivatives from the tubers of *Bletilla striata*[J]. Phytochemistry, 162: 216-223.

LI H, 2017. Study on the material basis of anti—dermatophytes of *Euphorbiae humifusae* herba[D]. Beijing: Peking Union Medical College. [李鹤, 2017. 地锦草抗皮肤癣菌物质基础研究[D]. 北京：北京协和医学院.]

LI YH, ZHU HJ, 2013. Study on eliminating effect of traditional Chinese medicine of unilateral or compound on *Escherichia coli* R plasmids [J]. Prac Pharm Clinical Remed , 16(12): 1147-1150. [李延鸿 ，朱怀军, 2013. 中药单方或复方对大肠埃希菌 R 质粒消除作用的研究[J]. 实用药物与临床,16(12): 1147-1150.]

MOHANTA, TK, OCCHIPINTI A, ZEBELO SA, et al., 2012. *Ginkgo biloba* responds to herbivory by activating early signaling and direct defenses[J]. PLoS ONE, 7(3): e32822.

MOHANTA TK, TAMBOLI Y, ZUBAIDHA PK, 2014. Phytochemical and medicinal importance of *Ginkgo biloba* L.[J]. Nat Prod Res, 28(10): 746-752.

MOUWAKEH A, KINCSES A, NOVE M, et al., 2019. *Nigella sativa* essential oil and its bioactive compounds as resistance modifiers against *Staphylococcus aureus*[J] . Phytotherapy Research, 1–9. https://doi.org/10.1002/ptr.6294.

PAGES, JM, AMARAL L, FANNING S, 2011. An original deal for new molecule: reversal of efflux pump activity, a rational strategy to combat gram—negative resistant bacteria [J]. Phytother Res, 18(19): 2969-2980.

PANDA SK, MOHANTA YK, PADHI L, et al., 2016. Large scale screening of ethnomedicinal plants for identification of potential antibacterial compounds[J]. Molecules, 21(3): 293.

PAUW, E, ELOFF JN, 2014. Which tree orders in southern Africa have the highest antimicrobial activity and selectivity against bacterial and fungal pathogens of animals?[J]. BMC Complement Altern Med, 14: 317.

REENS AL, 2018. A cell—based infection assay identifies efflux pump modulators that reduce bacterial intracellular load[J]. BMC Complement Altern Med, 14(6): e1007115.

ZACCHINO SA, BUTASSI E, LIBERTO MD, et al., 2017. Plant phenolics and terpenoids as adjuvants of antibacterial and antifungal drugs[J]. Phytomedicine, 37: 27-48.

ZHANG C, JIA X, YANG L, et al., 2017. A study on the antibacterial effect of Chinees medicine plumbagin on tigecycline—resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. J Chengdu Med Coll, 12(2): 117-121. [张驰，贾旭，杨羚，等，2017. 中药单体白花丹醌对替加环素耐药鲍曼不动杆菌的抗菌作用研究[J]. 成都医学院学报 12(2): 117-121.]

ZHANG DM, LI Q, MA DW, et al., 2008. Study on antifungal activity of oil from *curcuma kwangsiensis* S.G.Lee.etC.F.Liang[J]. JAnhui Univ (Nat Sci Ed), 32（1）:81-84. [张丹媚，李群，马丹炜，等, 2008. 广西莪术油抑制植物病原真菌活性的研究[J]. 安徽大学学报(自然科学版), 32(1): 81-84.]